

强直性脊柱炎患者外周血可溶性CD146的表达及意义*

薛勤, 汪年松, 高许萍, 范瑛, 张晓光, 唐令谏

Significance and expression of soluble CD146 in peripheral blood from patients with ankylosing spondylitis

Xue Qin, Wang Nian-song, Gao Xu-ping, Fan Ying, Zhang Xiao-guang, Tang Ling-quan

Department of Nephrology and Rheumatology, the Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

Xue Qin★, Master, Associate chief physician, Department of Nephrology and Rheumatology, the Sixth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China
xueqinckb@126.com

Received: 2009-08-04
Accepted: 2009-09-13

上海交通大学附属第六人民医院肾脏风湿科, 上海市 200233

薛勤★, 女, 1964年生, 江苏省常州市人, 汉族, 1989年上海第二医科大学毕业, 硕士, 副主任医师, 主要从事强直性脊柱炎、其他风湿病及肾脏病的研究。
xueqinckb@126.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2010)07-01244-04

收稿日期: 2009-08-04
修回日期: 2009-09-13
(20090704004/W·H)

Abstract

BACKGROUND: Research has been reported that serum soluble CD146 (sCD146) expression was improved on the surface of endothelial cells and activated T cells by the stimulation of inflammatory factor. Therefore, it predicts that CD146 may participate in inflammatory reaction of tissue.

OBJECTIVE: To investigate the expression and clinical significance of serum sCD146 in peripheral blood from patients with ankylosing spondylitis.

METHODS: A total of 62 patients with ankylosing spondylitis were selected from the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University. All patients were divided into two groups: active group (n=46) and inactive group (n=16); while, 20 healthy subjects were selected as the control group. Indicators including Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI), Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI), patient's global assessment (PGA), night pain, visual analogue scale (VAS), morning stiffness time, erythrocyte sedimentation rate (ESR), and C-reactive protein (CRP) were measured in all patients. The serum concentration of sCD146 from 62 patients with ankylosing spondylitis and 20 healthy controls was measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Westergren method was used to measure ESR and immunoturbidimetry for CRP. Clinical data of the patients were collected as well.

RESULTS AND CONCLUSION: sCD146 levels of patients with ankylosing spondylitis were significantly higher than normal control group ($P < 0.05$). The sCD146 expression in the active group was significantly higher than inactive and normal control groups ($P < 0.05$). Positive correlations were observed between sCD146 and BASDAI index of patients with ankylosing spondylitis ($P < 0.05$). The sCD146 levels of ankylosing spondylitis patients with peripheral joint involvement were significantly higher than the patients with axial involvement alone or the normal controls ($P < 0.05$).

The expression level of sCD146 in peripheral blood was positively correlated with disease activities of patients with ankylosing spondylitis. It may play important roles in the pathogenesis in ankylosing spondylitis.

Xue Q, Wang NS, Gao XP, Fan Y, Zhang XG, Tang LQ. Significance and expression of soluble CD146 in peripheral blood from patients with ankylosing spondylitis. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(7):1244-1247.
[http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 研究发现在炎症因子的刺激下内皮细胞和活化的 T 细胞表面表达 CD146 显著增加, 故推测 CD146 可能参与了组织的炎症反应。

目的: 观察强直性脊柱炎患者外周血可溶性 CD146 的表达水平和临床意义。

方法: 选择上海交通大学附属第六人民医院住院的强直性脊柱炎患者 62 例, 分为两组。活动期组 46 例, 非活动期 16 例。同时选择同期医院健康职工和大学生 20 名为对照组。在强直性脊柱炎患者初诊时评估 BASDAI、BASFI、强直性脊柱炎患者总体评分(PGA)、夜间痛、总体背痛评分、晨僵时间并测定红细胞沉降率、C-反应蛋白水平。应用 ELISA 法检测 62 例强直性脊柱炎患者与 20 例正常人外周血可溶性 CD146 的表达水平、魏氏法测定血沉及免疫比浊法测定 C-反应蛋白。对强直性脊柱炎患者可溶性 CD146 与各项检测指标相关分析。

结果与结论: 强直性脊柱炎患者的外周血清可溶性 CD146 的表达水平较正常对照组显著增高($P < 0.05$); 活动期强直性脊柱炎患者可溶性 CD146 的表达水平较非活动期和正常对照组显著增高($P < 0.05$); 强直性脊柱炎患者血清可溶性 CD146 的表达水平与 BASDAI 呈正相关($P < 0.05$); 累及外周关节型者血清可溶性 CD146 较单独中轴型强直性脊柱炎患者和正常对照组显著增高($P < 0.05$)。结果表明, 外周可溶性 CD146 表达水平的增加与强直性脊柱炎患者疾病的活动性有关, 其可能参与了强直性脊柱炎的发病过程。

关键词: 脊柱炎, 强直性; 黏附分子; 可溶性 CD146; 炎症反应; 外周血

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.07.024

薛勤, 汪年松, 高许萍, 范瑛, 张晓光, 唐令谏. 强直性脊柱炎患者外周血可溶性 CD146 的表达及意义[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(7):1244-1247. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

强直性脊柱炎是一种慢性进行性脊柱关节炎性疾病, 主要累及骶髂关节、脊柱骨突、肌腱、滑膜等, 致残率高^[1]。故积极探讨其发病机制, 早期诊断和及时治疗至关重要。

近年来黏附分子CD146与免疫应答以及炎症的关系正逐渐成为研究热点。1996年Bardin等^[2]在体外培养的人脐静脉内皮细胞的上清液中发现了CD146的可溶性形式。随后的研究发现在炎症因子的刺激下内皮细胞和活化的T细胞表面表达CD146显著增加, 故推测CD146可能参与了组织的炎症反应。

目前国内外尚缺乏有关黏附分子CD146与强直性脊柱炎患者关系的研究报道, 为了探讨可溶性CD146与强直性脊柱炎患者的病情活动度和炎症的相关性, 实验对强直性脊柱炎患者外周血清可溶性CD146的表达水平进行测定, 同时分析其与强直性脊柱炎患者临床表现的关系。

1 对象和方法

设计: 病例分析。

时间及地点: 实验于2007-09/2008-09上海交通大学附属第六人民医院肾脏风湿科完成。

对象: 选择同期在上海交通大学附属第六人民医院肾脏风湿科住院的强直性脊柱炎患者62例, 均符合1984年修订的强直性脊柱炎纽约分类标准^[3], 其中男52例, 女10例, 年龄16~62(33±12)岁, 病程1~40(6.22±7.65)年。所有患者按疾病活动指数(BASDAI)^[4]评分将其分为两组: 活动期组46例(BASDAI≥4或脊柱痛VAS≥4), 非活动期组16例(BASDAI<4或脊柱痛VAS<4)。其中单独中轴受累有48例, 同时有外周关节和中轴受累有14例。同期在本院健康职工和大学生中选20名为对照组, 男12例, 女8例, 年龄(30±6)岁, 排除心、肝、肾、内分泌疾病和肿瘤。强直性脊柱炎患者组与对照组相比, 两组的性别、年龄无显著性差异。根据国务院《医疗机构管理条例》规定^[5], 受试者均知情同意。

实验方法:

血清标本采集: 抽取每位受试者肘静脉血2 mL置于EDTA抗凝管, 充分混匀后30 min, 离心分离出血清, -20 °C冰箱保存待用。

可溶性CD146检测方法: 采用法国BIOCYTEX公司的单克隆抗体可溶性CD146 ELISA试剂盒, 按说明书操作。取出预先包被抗体的96孔板, 每孔各加入可溶性CD146标准品或待测样品200 μL; 将反应板置37 °C 30 min, 用洗涤液将反应板充分洗涤5次, 向滤纸上印

干, 再每孔中加入鼠抗人可溶性CD146抗体的过氧化物200 μL, 37 °C 孵育30 min。每孔加入底物工作液100 μL, 置37 °C暗处反应5 min, 每空加入50 μL终止液混匀, 在492 nm处测吸光度值。

用魏氏法测定血沉及免疫比浊法测定C-反应蛋白。

强直性脊柱炎患者初诊时评估BASDAI、BASFI、强直性脊柱炎患者总体评分(PGA)、夜间痛、总体背痛评分、晨僵时间并测定红细胞沉降率、C-反应蛋白水平。

主要观察指标: ①各组可溶性CD146的变化。②强直性脊柱炎患者可溶性CD146与各项检测指标相关分析。

设计、实施、评估者: 设计、资料收集为第一作者、实施为全部作者, 评估为第二作者。均经过培训。

统计学分析: 所有数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 由本文作者用SPSS 11.0统计软件包进行统计学分析, 不同组别之间的差异用非参数分析。可溶性CD146与临床参数之间的相关性分析采用直线相关分析。 $P < 0.05$ 即认为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 参与者数量分析 纳入患者62例, 对照组20例, 全部进入结果分析。

2.2 各组外周血可溶性CD146的表达比较 正常对照组外周血可溶性CD146的表达水平很低, 而强直性脊柱炎患者外周血可溶性CD146表达水平明显增高, 两组比较差异有显著性意义($P=0.027$)。活动期强直性脊柱炎患者组可溶性CD146的表达较非活动期强直性脊柱炎患者组和正常对照组高($P=0.004$, $P=0.000$), 但非活动期强直性脊柱炎患者组可溶性CD146的表达与正常对照组差异无显著性意义($P=0.642$)。见表1。

表1 各组外周血可溶性CD146的表达水平
Table 1 Expression levels of soluble CD146 (sCD146) in peripheral serum of each group ($\bar{x}\pm s$)

Group	sCD146
AS patients	307.21±109.50 ^a
Active AS patients	341.70±112.18 ^{ab}
Inactive AS patients	268.48±62.40
Normal controls	255.68±65.50

AS: ankylosing spondylitis; ^a $P < 0.05$, vs. normal control group; ^b $P < 0.05$, vs. inactive AS patients

2.3 外周血清可溶性CD146的表达水平与临床指标相关性 强直性脊柱炎患者可溶性CD146的表达水平与BASDAI呈正相关($P < 0.05$), 可溶性CD146的表达与红细胞沉降率、C-反应蛋白、BASDFI、PGA、晨僵及夜间痛无相关性($P > 0.05$)。见表2。

表2 强直性脊柱炎患者可溶性 CD146 的表达率与临床指标相关性分析
Table 2 Correlation between expression levels of soluble CD146 and clinical features of patients with ankylosing spondylitis

Item	r	P
ESR	0.060	0.697
CRP	-0.099	0.523
PGA	0.100	0.518
Night pain	-0.229	0.854
Morning stiffness	0.095	0.540
BASDAI ^a	0.374	0.019
BASFI	0.088	0.572

^aP < 0.05

2.4 累及外周关节型与单独中轴型强直性脊柱炎患者外周血清可溶性 CD146 水平的比较 累及外周关节型较单独中轴型强直性脊柱炎患者和正常对照组高 (P=0.037, P=0.003), 单独中轴型强直性脊柱炎患者外周血清可溶性 CD146 的表达也较正常对照组高 (P=0.035)。见表3。

表3 各组外周血可溶性 CD146 的表达水平
Table 3 Expression level of soluble CD146 (sCD146) in peripheral serum of each group (x̄±s)

Item	sCD146
Peripheral joint	370.93±94.49 ^{ab}
Central axis alone	308.74±60.79 ^a
Normal control	255.68±65.50

^aP < 0.05, vs. normal control group; ^bP < 0.05, central axis alone group

3 讨论

有关强直性脊柱炎的发病机制目前尚不明确, 越来越多的证据表明其是一种全身慢性炎症性的疾病。其中血管内皮细胞损伤是炎症性疾病发生、发展的一个基本环节, 近年来许多实验证实 CD146 为内皮细胞损伤的主要标志之一^[6-8]。CD146 属于免疫球蛋白超家族成员, 是一种高度糖基化的膜糖蛋白, 相对分子质量为 113 000, 由胞外区、跨膜区以及胞浆尾段组成^[9]。CD146 不仅在所有人内皮细胞上组成性表达, 而且在活化的 T 细胞、大脑皮质组织和皮肤角质细胞等组织中都有 CD146 的表达^[10-11]。其中 CD146 在内皮细胞以及 T 细胞的表达与免疫炎症性疾病的关系最为密切^[12-16]。有证据表明 CD146 单抗能够抑制人微血管内皮细胞 (HMVEC) 间的黏附, 并抑制其修复功能^[17-18]。Yan 等^[19]成功制备了 CD146 单抗, 在体外实验中发现其能特异性地识别 CD146 抗原, 并抑制内皮细胞的增生和迁移; 进一步研究证实了 CD146 能促进血管内皮细胞增殖和血管新生^[20-22]。内皮细胞可组成性表达 MHC I 类抗原, 作为抗原提呈细胞参与免疫应答, CD146 具有免疫球蛋白样

结构且可表达在 T 细胞表面, 故可能直接作为共刺激分子参与免疫应答^[23-24]。在某些前炎症因子如肿瘤坏死因子 (TNF) 刺激下, 能诱导滑膜内皮细胞表达黏附分子 CD146 显著增加, 从而介导细胞间的相互黏附, 引起血管内皮细胞损伤, 促进炎症细胞增殖, 导致炎症反应。

可溶性的 CD146 是内皮细胞先在胞内合成 CD146 前体 (相对分子质量约 100 000), 随后在细胞膜上表达成熟的 CD146 糖蛋白分子 (M_r 约 120 000), 而细胞上清液中可溶性 CD146 相对分子质量约比膜上的 CD146 小 10 000。它与免疫球蛋白超家族的其他可溶性分子一样, 可能对调节和控制功能很重要。研究发现恶性肿瘤患者的外周血中可溶性 CD146 异常增高。本科室也首次证实了可溶性 CD146 同样存在于人近端肾小管上皮细胞的上清液中, 其浓度随着培养时间的延长而持续升高^[25-27]。Neidhart 等^[28]在早期 RA 患者关节滑膜组织中微血管内皮细胞过高表达可溶性 CD146, 并与患者关节晨僵程度和关节肿痛数目呈正相关; 进一步的研究发现 CD146 在局部的滑膜组织中也高表达, 但仅限于微血管内皮细胞, 提示 CD146 可以促进内皮细胞迁移、增殖, 促进血管新生。通过测定局部组织 CD146 的水平能反映类风湿关节炎患者的病情活动度, 并对类风湿关节炎早期诊断提供了新的依据。吴国荣等^[29]在系统性红斑狼疮患者外周血中检测到 SLE, 肾损伤早期, 外周血 CD146 水平已明显高于正常人群, 且与微量白蛋白、α1 微球蛋白、转铁蛋白等反映肾损伤的早期敏感指标有很好的相关性。在新近的一些脊柱关节病研究中发现^[30], 在强直性脊柱炎和银屑病性关节炎患者滑膜组织病理学中检测到 CD146 分子的高表达、滑膜细胞层的增厚、血管炎和中性粒细胞和巨噬细胞的浸润相比类风湿性关节炎中的病变更明显。

本组结果显示, 强直性脊柱炎患者的外周血清可溶性 CD146 的表达较正常对照组显著增高。进一步分析发现, 活动期强直性脊柱炎患者可溶性 CD146 的表达较非活动期和正常对照组明显升高, 但非活动期强直性脊柱炎患者可溶性 CD146 的表达与正常对照组无明显差异。强直性脊柱炎患者可溶性 CD146 的表达与 BASDAI 呈正相关 (P < 0.05)。累及外周关节型强直性脊柱炎患者外周血清可溶性 CD146 较单独中轴型强直性脊柱炎患者和正常对照组有明显升高, 单独中轴型强直性脊柱炎患者外周血清可溶性 CD146 的表达也较正常对照组。以上结果表明强直性脊柱炎患者的血清上清液中存在可溶性 CD146 的可溶性形式, 且可溶性 CD146 表达的增加与强直性脊柱炎疾病的活动度呈正相关, 由此推测其可能不仅参与了强直性脊柱炎的发病过程, 而且对判断病情严重程度和预后都有着积极的意义。

4 参考文献

[1] Gibbon WW, Wakefield RJ. Ultrasound in inflammatory disease. Radiol Clin North Am. 1999; 37:633-651.

[2] Bardin N, Anfosso F, Masse JM, et al. Identification of CD146 as a component of the endothelial junction involved in the control of cell-cell cohesion. Blood. 2001; 98: 3677-3684.

[3] Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria. Arthritis Rheum. 1984; 27: 361-368.

[4] Calin A, Garrett S, Whitlock H, et al. A new approach to defining functional ability in ankylosing spondylitis: the development of the Bath ankylosing spondylitis disease functional index. J Rheumatol. 1994; 21:2281-2285.

[5] State Council of the People's Republic of China. Administrative Regulations on Medical Institution. 1994-09-01. 中华人民共和国国务院. 医疗机构管理条例. 1994-09-01.

[6] Shih IM. The role of CD146 (Mel-CAM) in biology and pathology. J Pathol. 1999;189:4-11.

[7] Bardin N, George F, Mutin M, et al. S-Endo 1, a pan-endothelial monoclonal antibody recognizing a novel human endothelial antigen. 1996; 548:531-539.

[8] Schrage A, Loddenkemper C, Erben U, et al. Murine CD146 is widely expressed on endothelial cells and is recognized by the monoclonal antibody ME-9F1. Histochemistry and cell biology. 2008;129:441-451.

[9] Lehmann JM, Riethmullerq Johnson JP. MUC18, a marker of tumor progression in human melanoma, shows sequence similarity to the neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. Proc Natl Acad Sci USA. 1989; 86(24): 9891-9895.

[10] Pickl WF, Majdic O, Fischer GF, et al. MUC18/MCAM(CD146), an activation antigen of huamn T lymphocytes. J Immunol, 1997; 158: 2107-2115.

[11] Gu GL, Dai GH, Cao GP, et al. Lincuang Jiyanan Zazhi. 2008; 26(6):436-437. 顾桂兰,戴光辉,曹国平等.黏附分子CD146在健康人外周血细胞中的表达[J].临床检验杂志,2008;26(6):436-437.

[12] Figarella Branger D, Schleinitz N, Boutiere-Albanese B, et al. Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 and CD146: soluble levels and in situ expression of cellular adhesion molecules implicated in the cohesion of endothelial cells in idiopathic inflammatory myopathies. The Journal of rheumatology. 2006; 33:1623-1630.

[13] Wang F,Wang NS,Yan CG,et al.Zhongguo Shiyan Zhenduanxue Zazhi.2006; 10(10):1138-1140. 王峰,汪年松,晏春根,等.慢性肾炎患者外周血CD146的表达[J].中国实验诊断学杂志,2006,10(10): 1138-1140.

[14] Wang NS,Wang F,Fan Y,et al. Zhongguo Shiyan Zhenduanxue Zazhi.2007;11(12):1649-1650. 汪年松,王峰,范瑛,等.2型糖尿病患者血浆CD146水平测定的临床意义[J].中国实验诊断学杂志,2007, 11(12):1649-1650.

[15] Bardin N, Reumaux D, Geboes K. Increased expression of CD146, a new marker of the endothelial junction in active inflammatory bowel disease.Inflamm Bowel Dis.2006; 12:16-21 .

[16] Qian XH,Chen YB,Jiang DS,et al.Zhongguo Weixunhuan. 2008; 12:362-364. 钱晓惠,陈亚宝,姜东升,等.肾小球肾炎患者外周血CD45~CD146~+细胞的检测及意义[J].中国微循环,2008,12:362-364.

[17] Bardin N, Frances V, Lesaule G. Identification of the S-Endo 1 endothelial-associated antigen. Biochem Biophys Res Commun. 1996;218(1):210-216.

[18] Guezzuez B, Vigneron P, Lamerant N, et al. Dual Role of Melanoma Cell Adhesion Molecule (MCAM)/CD146 in Lymphocyte Endothelium Interaction: MCAM/CD146 Promotes Rolling via Microvilli Induction in Lymphocyte and Is an Endothelial Adhesion Receptor. The Journal of Immunology. 2007; 179:6673-6685.

[19] Yan XY, Lin Y, Yang D. A novel anti-CD146 monoclonal antibody, AA98, inhibits angiogenesis and tumor growth. Blood.2003;102: 184-191.

[20] Solovey AN, Gui L, Chang L, et al. Identification and functional assessment of endothelial P1H12. J Lab Clin Med.2001;138(5): 322-531.

[21] Yanyong Kang, Fengcai Wang, Jing Feng, et al.Knockdown of CD146 reduces the migration and proliferation of human endothelial cells. Cell Reserch. 2006;16(3) 313-318.

[22] Bu P,Zhuang J,Feng J,et al. Visualization of CD146 dimerizationand its regulation in living cells.Biochimiea et Biophysica Acta.2007; 1773:513-520.

[23] Pearl RA,Pacifico MD,Richman PI,et al.Stratification of patients by melanoma cell adhesion molecule(MCAM)expression on the basis of risk:implications for sentinel lymph node biopsy.J Plast Reconstr Aesthet Surg.2008; 61: 265-271.

[24] Aldovini D, Demichelis F, Dogliani C, et al. M-cam expression as marker of poor prognosis in epithelial ovarian cancer. Int J Cancer. 2006;119:1920-1926.

[25] Fan Y,Wang NS,Ni PH,et al.Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Lincuang Kangfu. 2007;11(27):5364-5369. 范瑛,汪年松,倪培华,等.人近端肾小管上皮细胞上表达黏附分子CD146与细胞的增殖生长状态[J].中国组织工程研究与临床康复, 2007;11(27):5364-5369.

[26] Wu QM,Wang NS,Ni PH,et al.Zhngguo Zhongxiyi Jiehe Shenbing Zazhi. 2009;10(5):396-399. 吴乔木,汪年松,倪培华,等.人近端肾小管上皮细胞黏附分子CD146表达对细胞凋亡的影响[J].中国中西医结合肾病杂志,2009,10(5): 396-399.

[27] Fan Y,Wang NS,Ni PH,et al.Zhonghua Shenzangbingxue Zazhi. 2006;22(12):772-773. 范瑛,汪年松,倪培华,等.CD146-肾小管上皮细胞新的生物标志[J].中华肾脏病学杂志,2006;22(12):772-773.

[28] Neidhart M, Wehrli R, Bruhlmann P, et al. Synovial fluid CD146(MUC18), a marker for synovial membrane angiogenesis in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1999; 42: 622-630.

[29] Wu GR,Yang XJ,Chen GQ.Lincuang Jiyanan Zazhi. 2008;26(1): 57-58. 吴国荣,杨小娟,陈国千.系统性红斑狼疮患者外周血CD146水平的初步观察[J].临床检验杂志,2008,26(1):57-58.

[30] Kruithof E, Baeten D, Rycke L, et al. Synovial histopathology of psoriatic arthritis, both oligo- and polyarticular, resembles spondyloarthropathy more than it does rheumatoid arthritis. Arthritis Res Ther. 2005;7: 569-580.



2010 年本刊“组织工程”栏目组稿重点：本刊学术部

组稿重点	更多内容网站点击
本刊“组织构建”栏目关于细胞和组织培养方法组稿重点	www.crter.org/html/2010_01_17/2_85506_2010_01_17_90971.html
本刊关于“器官组织构建”栏目对实验方法方面内容的组稿重点	www.crter.org/html/2010_01_17/2_85506_2010_01_17_90974.html
本刊“组织构建”栏目上皮细胞构建组织培养内容方面的组稿重点	www.crter.org/html/2010_01_17/2_85506_2010_01_17_90972.html
本刊“组织构建”栏目关于间充质细胞构建细胞组织方面的组稿重点	www.crter.org/html/2010_01_17/2_85506_2010_01_17_90973.html